

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Januar 2001 (18.01.2001)

PCT

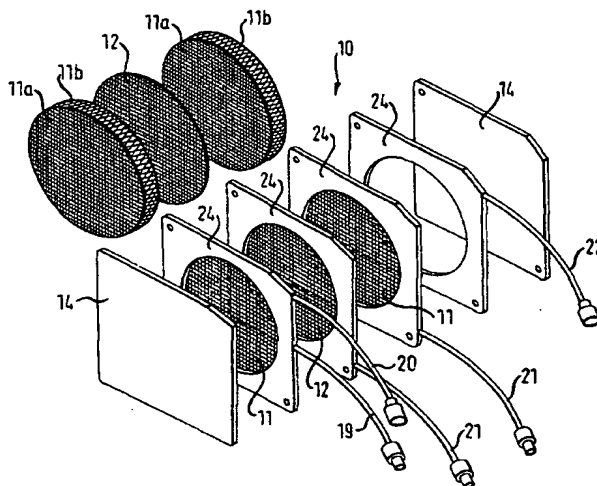
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/04262 A2

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :	C12M	(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SEFAR AG [CH/CH]; Moosstrasse 2, CH-8803 Rüschlikon (CH).
(21) Internationales Aktenzeichen:	PCT/EP00/06355	
(22) Internationales Anmeldedatum:	5. Juli 2000 (05.07.2000)	(72) Erfinder; und
		(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WECHSLER, Thomas [CH/CH]; Stauffacherstrasse 141, D-8004 Zürich (CH). BÄR, Ulrich [CH/CH]; Weidstrasse 4, CH-9410 Heiden (CH). OEHR, Christian [DE/DE]; Robert-Schumann-Strasse 15, D-71083 Herrenberg (DE). GRAEVE, Thomas [DE/DE]; Nauheimer Strasse 17, D-70372 Stuttgart (DE).
(25) Einreichungssprache:	Deutsch	
(26) Veröffentlichungssprache:	Deutsch	
(30) Angaben zur Priorität:		
199 32 439.5	12. Juli 1999 (12.07.1999) DE	

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOREACTOR

(54) Bezeichnung: BIOREAKTOR



(57) **Abstract:** The invention relates to a bioreactor and to a method for cultivating organic material, especially cells, using a nutrient medium. The aim of the invention is to intensively cultivate the organic material while using a simple and reliable handling. To this end, the inventive bioreactor is equipped with a flow generating device by means of which the nutrient medium is forced to flow, whereby a collecting device is arranged within the flow. Said collecting device is configured for collecting and/or holding the organic material and is permeable so that the flowing nutrient medium can pass through the same. The inventive method is characterized in that the nutrient medium is forced to flow in an at least intermittent manner, in that the organic material, especially cells, is held in or on a collecting device which is permeable to the nutrient medium, and in that the nutrient medium is conveyed through the collecting device.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor sowie ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials, insbesondere von Zellen, mittels eines Nährmediums. Zur intensiven Kultivierung des organischen Materials bei einfacher und zuverlässiger Handhabung ist bei dem erfindungsgemässen Bioreaktor eine Strömungserzeugungs-Einrichtung

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 01/04262 A2



(74) **Anwälte:** WÜNDERLICH, Rainer usw.; Weber & Heim, Irmgardstrasse 3, D-81479 München (DE).

europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Veröffentlicht:

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

vorgesehen, durch welche das Nährmedium in eine Strömung versetzbar ist, wobei in der Strömung eine Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist, welche zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials ausgebildet ist, und wobei die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten des strömenden Nährmediums durchlässig ausgebildet ist. Das erfindungsgemässe Verfahren zeichnet sich dadurch aus, dass das Nährmedium zumindest zeitweise in eine Strömung versetzt wird, dass das organische Material, insbesondere Zellen, in oder an einer Aufnahmeeinrichtung gehalten wird, welche für das Nährmedium durchlässig ausgebildet ist, und dass das Nährmedium durch die Aufnahmeeinrichtung hindurchgeleitet wird.

Bioreaktor

Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor sowie ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials gemäß dem Oberbegriff der Ansprüche 1 bzw. 15.

Die Kultivierung organischen Materials, vor allem menschlicher oder tierischer Zellen gewinnt in der medizinischen Diagnostik, Therapie und Pharmakologie zunehmend an Bedeutung.

Von besonderem Interesse ist hierbei die Vermehrung von hämatopoetischen Stammzellen. Diese werden einem Patienten vor einer Strahlen- oder Chemotherapie entnommen und sollen in möglichst großer Anzahl dem Patienten nach Abschluß der Strahlen- und Chemotherapie retransplantiert werden.

Bei diesem Verfahren ist unter anderem die Kryokonservierung gebräuchlich, bei welcher entnommene Blutstammzellen während der Dauer der Strahlen- oder Chemotherapie eingefroren werden. Allerdings ist hierdurch keine Anreicherung der Zellen möglich. Vielmehr wird die Anzahl lebender Zellen sowie deren Vitalität deutlich reduziert.

Es wurden bereits Methoden zur Kultivierung und Anreicherung verschiedener Zellen menschlichen Ursprungs entwickelt und etabliert.

Typischerweise werden Zellen in Behältern oder Petrischalen kultiviert, in welchen sich ein für die Kultivierung des jeweiligen Zelltyps geeignetes Nährmedium befindet. Während der Kultivierung sind im allgemeinen mehrere Behandlungsschritte notwendig, wie beispielsweise der Austausch des Nährmediums sowie ein Umsetzen kultivierter Zellen in andere Behältnisse.

Durch das erforderliche mehrfache Eingreifen in den Kultivierungsprozess wächst die Gefahr der Kontamination des Zellmaterials, beispielsweise durch Laborgeräte oder Umgebungsluft, wodurch das zu kultivierende Material für die weitere Verwendung unbrauchbar wird.

Die Handhabung des gesamten Kultivierungsprozesses gestaltet sich insgesamt relativ aufwendig, so daß ein klinischer Einsatz im großen Maßstab kaum durchführbar ist.

Weiter wurde eine Kultivierung von Zellen in Hohlfasern versucht. Die Zellen in den Hohlfasern werden dabei von der Faseraußenseite diffusiv mit Nährstoffen versorgt. Zu Beginn der Zellkultivierung können dabei relativ gute Wachstumsraten erreicht werden, wobei mit zunehmender Anzahl von Zellen in den räumlich begrenzten Hohlfasern eine weitere Vermehrung problematisch wird.

Eine ähnliche Problematik besteht bei dem gattungsbildenden Bioreaktor und dem gattungsbildenden Verfahren gemäß der EP 0 121 981 A1. Ein poröser, monolithischer Keramikblock, welcher mit einer Vielzahl von feinen, parallel verlaufenden Kanälen durchzogen ist, wird mit Zellen beimpft. Die Zellen lagern sich an der porösen Innenseite der Kanäle an, welche von einer Nährflüssigkeit durchströmt werden.

- 3 -

Der Erfindung liegt die **A u f g a b e** zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Kultivierung organischen Materials zu schaffen, welche einerseits eine intensive Kultivierung eines organischen Materials erlauben und andererseits besonders einfach und zuverlässig handhabbar sind.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch den Bioreaktor mit den Merkmalen des Anspruchs 1 sowie mit dem Verfahren gemäß Anspruch 15 gelöst.

Bei dem Bioreaktor ist vorgesehen, daß eine Strömungserzeugungs-Einrichtung vorhanden ist, durch welche das Nährmedium in eine Strömung versetzbar ist, daß in der Strömung eine Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist, welche zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials ausgebildet ist, und daß die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten des strömenden Nährmediums durchlässig ausgebildet ist.

Ein Grundgedanke der Erfindung liegt in der konvektiven Versorgung des organischen Materials mit Nährmedium. Diese Versorgung kann kontinuierlich oder quasi-kontinuierlich erfolgen. Hierdurch kann eine nahezu optimale Bereitstellung der notwendigen Nährstoffe über die gesamte Zeitspanne der Kultivierung gewährleistet werden, wobei gleichzeitig durch die Strömung des Nährmediums für das Zellwachstum abträgliche Stoffwechselprodukte rasch entfernt werden. Versuche mit hämopoetischen Stammzellen haben hervorragende Wachstums- und Vitalitätsraten erbracht.

Der Bioreaktor umfaßt ein geschlossenes Gehäuse mit mindestens einem Zu- und Ablauf und mindestens einem Strömungskanal, wobei zur Erzeugung der Strömung ein Gefälle oder gängige Pumpeneinrichtungen, etwa Schlauchpumpen, eingesetzt werden können.

Prinzipiell sind aber auch andere Vorrichtungen geeignet, die das Nährmedium in Strömung versetzen können. Die Strömungsgeschwindigkeit und der Durchfluß werden so eingestellt, daß das organische Material in der Aufnahmeeinrichtung weitgehend immobilisiert bleibt. Das Nährmedium strömt quer durch die Aufnahmeeinrichtung von einem Trennwandelement zum anderen, wobei das organische Material im wesentlichen quer zur Strömung angeordnet ist.

Mit dem erfindungsgemäßen Bioreaktor wird eine ununterbrochene Versorgung des organischen Materials mit den erforderlichen Nährmedien und Stoffen durch Zuleitung während des gesamten Kultivierungsprozesses ermöglicht, wodurch sich die Handhabung und Durchführung des Kultivierungsprozesses stark vereinfacht. Durch das Wegfallen eines mehrfachen externen Eingreifens in den Kultivierungsprozess sowie der damit verbundenen höheren Kontaminationsgefahr ist der erfindungsgemäße Reaktor insbesondere auch für den klinischen Einsatz in großem Umfang geeignet.

Die gleichmäßig gute Versorgung des organischen Materials mit Nährstoffen erlaubt eine intensive Kultivierung des Materials, wobei Anreicherungsgrade der Zellen den Faktor 10 und größer erzielen können. Zum Vergleich werden bei der Kultivierung von Zellen in Kulturbedältern oder Petrischalen trotz eines wesentlich größeren Aufwandes typischerweise Anreicherungsfaktoren lediglich zwischen 2 und 4 erreicht.

Ganz allgemein ist der erfindungsgemäße Bioreaktor zur Kultivierung von verschiedenartigstem organischen Material geeignet. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um einfache Strukturen, wie Bakterien, Viren, Pilze oder Körperzellen. Hierzu zählen neben den Stammzellen unter anderem mikro-

und makrovaskuläre Endothelzellen aus Milz, Nebenniere und Aorta, unterschiedliche Zelltypen aus der Cornea, Augenlinsen- und Retinazellen, Haut-, Knochen- sowie Knochenmarkzellen. Prinzipiell ist aber auch die Kultivierung komplexer Strukturen, etwa von ganzen Organen oder Teilen davon denkbar.

Der erfindungsgemäße Bioreaktor zeichnet sich dadurch aus, daß die Aufnahmeeinrichtung zumindest zwei Trennwandelemente aufweist, durch welche ein Aufnahmeraum umschlossen ist, daß in dem Aufnahmeraum das organische Material angeordnet ist und daß die Trennwandelemente einerseits durchlässig für das Nährmedium und andererseits im wesentlichen undurchlässig für das organische Material ausgebildet sind. Durch die Undurchlässigkeit der Trennwandelemente für das organische Material wird zum einen eine definierte Immobilisierung des organischen Materials in der Aufnahmeeinrichtung erreicht. Es wird ein Wegspülen des organischen Materials verhindert, da dieses in einem definierten Raum in der Strömung eingeschlossen ist. In diesem definierten Raum, der sich vorzugsweise über den gesamten Strömungsquerschnitt erstreckt und relativ schmal ausgebildet ist, kann sich das organische Material auch in gewissem Umfang bewegen, wodurch sich eine gleichmäßig gute Besiedelung mit Zellen ergibt. Zum anderen ist aufgrund der Durchlässigkeit der Trennwandelemente für das Nährmedium weiter eine gute konvektive Versorgung des organischen Materials und damit eine intensive Kultivierung desselben gewährleistet.

Prinzipiell sind zur Verwendung in den Trennwandelementen verschiedenste Materialien denkbar, die die erforderliche

Durchlässigkeit für ein zuzuführendes Medium aufweisen. Sie können z.B. aus Gewebe, Gewirke oder Filzen oder aus anderen permeablen Werkstoffen bestehen. Gewebe haben sich als besonders zweckmäßig für Bioreaktoren zur Kultivierung von Leberzellen erwiesen. Gewebe mit ihren relativ groben Maschen erzeugen eine hervorragende Diffusorwirkung bei dem strömenden Nährmedium.

Besonders bevorzugt ist jedoch, wenn die Trennwandelemente eine Membran aufweisen. Da sich Membranen mit unterschiedlichen Eigenschaften hinsichtlich ihrer Durchlässigkeit sowie ihres selektiven Verhaltens herstellen lassen, kann die Versorgung der im Bioreaktor zu kultivierenden Zellen mit bestimmten Stoffen durch den Einsatz einer entsprechend geeigneten Membran gezielt beeinflusst werden. Darüber hinaus ist auch die mechanische Stabilität der Trennwandelemente durch die Wahl von unterschiedlich verstärkten Membranen gezielt einstellbar und an die jeweiligen Erfordernisse des organischen Materials, z.B. bei adhärennten Zellen, anpaßbar. Zur Verstärkung der Membran können beispielsweise textile Verstärkungen, wie Gewebe oder Gewirke, dienen. Es ist ein Einsatz organischer oder anorganischer Membranen, beispielsweise aus einem Polymer, Metall oder Keramik oder einer Kombination aus diesen Materialien möglich.

Für eine besonders gute Immobilisierung des organischen Materials ist bei dem erfindungsgemäßen Bioreaktor vorgesehen, daß die Aufnahmeeinrichtung ein Trägerelement aufweist, welches zum Anlagern des organischen Materials ausgebildet ist und für das Nährmedium durchlässig ist. Ein Anlagern des organischen Materials an das im wesentlichen flächige Trägerelement kann durch eine spezielle Struktur des Trägerelementes und/oder durch den Strömungsdruck er-

reicht werden. Das Trägerelement kann alleine oder bevorzugt in Kombination mit den Trennwandelementen die Aufnahmeeinrichtung bilden. Diese Ausführung eignet sich unter anderem für die Kultivierung von Implantaten, etwa von in vitro-gezüchteten Hautflächen, für welche eine großflächige Anordnung der immobilisierten Zellen erforderlich ist.

Hierbei ist es vorteilhaft, wenn das Trägerelement ein textiles Trägermaterial umfaßt. Durch die entsprechende Wahl, z.B. von Gewebeart und -material, Filamentstärke, Maschenweite und Fadenzahl lassen sich in einfacher Weise für jeden Anwendungsfall ein nahezu ideales Verhältnis zwischen Oberfläche und Reaktorvolumen sowie gute Durchflußeigenschaften für die Nährstoffversorgung der Zellen einstellen. Dies erlaubt eine gezielte Beeinflussung und Förderung der Kultivierung des organischen Materials.

Als textile Trägermaterialien eignen sich hierbei technische Gewebe, Gewirke und Gelege, bei welchen die Struktur aus Monofilamenten oder Drähten exakt definiert wird. Die Monofilamente oder Drähte können beispielsweise aus Metall, Keramik, synthetischen und/oder natürlichen Materialien, wie Zellulose, mit und ohne Oberflächenbeschichtungen bestehen. In bestimmten Fällen sind auch Multifilamentgewebe zweckmäßig, bei welchen die die Gewebestruktur definierenden Fäden ihrerseits aus einer Vielzahl kleinerer Fäden bestehen.

Eine gezielte Einlagerung von Zellen in das Trägerelement kann durch eine dreidimensionale Struktur erreicht werden. Das Trägerelement kann beispielsweise ein poräses Kunststoff- oder Keramikmaterial oder ein sogenanntes dreidimensionales technisches Gewebe sein. Derartige Gewebe weisen

zwei oder mehrere übereinanderliegende und zum Teil verbundene oder verwobene Gewebematrizen auf, welche einen sicheren Halt für eingelagertes Zellmaterial bieten. Weiterhin kann eine dreidimensionale Struktur durch Falten, Plissieren oder Rollen eines etwa zweidimensionalen Elements erfolgen. Überdies kann eine Gerüststruktur des Trägerelements oder ein Aufbau aus Strukturelementen, wie zum Beispiel Rohrkörper oder Waben, vorgesehen sein. Schließlich können auch sogenannte non-woven-Materialien und Vliesstoffe zur Anwendung kommen.

Bei der Verwendung von technischen Geweben als Trägerelement ist es von Vorteil, wenn das technische Gewebe oberflächenbehandelt ist und eine bioverträgliche Oberfläche mit einer Struktur für eine Adhäsion des organischen Materials ausgebildet ist. Auf diese Weise läßt sich die Oberfläche eines stabilen Gewebes, etwa aus Polyester, Polyamid, einem Trifluorethylen/Ethylen-Copolymer, Metall oder Keramik, für verschiedene Zwecke gezielt funktionalisieren. So kann das Zellwachstum durch die Erzeugung einer hydrophilen Geweboberfläche oder durch die Erhöhung der Konzentration an stickstoffhaltigen funktionellen Gruppen positiv beeinflußt werden. Andere Substanzen, wie z.B. Immunglobulin G (IgG), dagegen werden bevorzugt an hydrophoben Oberflächen adsorbiert.

Eine besonders effektive Oberflächenbehandlung stellen hierbei Niedertemperatur-Plasmaverfahren dar, mit welchen beispielsweise Textilmaterialien aus Polymer, Metall oder Keramik und Membrane gezielt mit einer inerten Oberfläche beschichtet und damit funktionalisiert werden können, ohne daß das zu behandelnde Gewebe aggressiven Lösungen oder hohen Temperaturen ausgesetzt werden muß. Auf diese Weise

lassen sich unterschiedliche Materialeigenschaften, wie z.B. eine hohe mechanische Stabilität eines Trägergrundmaterials systematisch mit gewünschten Oberflächeneigenschaften, wie z.B. Hydrophilie und Zelladhäsion, kombinieren.

Es ist vorgesehen, daß der erfindungsgemäße Bioreaktor als eine Flachzelle aufgebaut ist, bei welcher die Aufnahme-einrichtung vorzugsweise kreisrund ausgebildet ist. Bei einem kreisrund ausgebildeten Hohlraum in der Flachzelle wird eine besonders gute Strömung und damit eine gleichmäßige Versorgung der zu kultivierenden Zellen mit Nährmedium gewährleistet. Die Flachzelle kann schichtweise, etwa aus verklebten Kunststoffelementen aufgebaut sein, wodurch sich ein kompakter und zugleich einfach herzustellender Bioreaktor ergibt. Die einfache Herstellbarkeit erlaubt sogar den Einsatz des Bioreaktors als Einmalartikel, was für medizinische Anwendungen vorteilhaft sein kann. Gleichzeitig ist die Flachzelle auch so robust, daß eine Sterilisation durch Autoklavieren oder durch γ -Sterilisieren möglich ist. Für das Beimpfen und Ernten größeren organischen Materials, etwa von Implantaten, ist der Bioreaktor montierbar bzw. demontierbar.

Eine alternative Ausführungsform der Erfindung besteht darin, dass der Bioreaktor als Rohrzelle aufgebaut ist, bei der die Trennwandelemente rohrförmig ausgebildet sind. Eine derartige rohrartige Anordnung der Trennwandelemente führt zu einer besonders kompakten Ausgestaltung.

Eine besonders gute Strömung des Nährmediums wird erfindungsgemäß dadurch erreicht, dass die rohrförmigen Trennwandelemente achsparallel, vorzugsweise coaxial zueinander angeordnet sind. Bei der coaxialen Anordnung, wobei auch das Trägerelement zylinderförmig ausgebildet und zwischen

den beiden rohrförmigen Trennwandelementen angeordnet sein kann, stellt sich eine Strömung des Nährmediums radial von außen nach innen oder radial von innen nach außen ein. Eine zuverlässige Positionierung der einzelnen Elemente zueinander ist durch radial verlaufende Stege oder Stutzkörper gewährleistet, die an dem umgebenden Gehäuse befestigt sind. Ein besonders gleichmäßiger Zu- und Abfluss des Nährmediums wird dadurch erzielt, dass innerhalb des äußeren rohrförmigen Trennwandelementes mehrere innere, rohrförmige Trennwandelemente angeordnet sind, die zueinander achsparallel verlaufen.

Bei einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist es vorteilhaft, wenn mehrere Flachzellen oder Rohrzellen als Module in einer Strömungsrichtung parallel und/oder seriell angeordnet sind. Hierbei kann das aus einer ersten Flachzelle ausströmende Medium unmittelbar weiteren Flachzellen zugeführt werden, so daß eine besonders effektive Nutzung des Nährmediums sowie eine eventuelle Verwertung von Stoffwechselprodukten einer vorausgehenden Zelle möglich ist. Zweckmäßig ist in der Regel jedoch eine parallele Anordnung, um eventuelle Vergiftungen durch Stoffwechselprodukte auszuschließen.

In einer bevorzugten Ausführungsform des Bioreaktors ist eine Steuereinrichtung vorgesehen, durch welche die Strömungserzeugungs-Einrichtung, eine Temperatureinstelleinheit, eine Begasungseinheit und/oder weitere Versorgungseinheiten steuerbar und/oder regelbar sind. Hierdurch läßt sich der Kultivierungsprozeß des organischen Materials über verschiedene Parameter, wie Durchflusgeschwindigkeit, Durchflußmenge, Temperatur und Druck des Nährmediums sowie die Zu- und Abführung weiterer Medien und Stoffe gezielt beeinflussen.

Insbesondere ist durch eine Steuerung bzw. Regelung der unterschiedlichen Einheiten von der Steuereinrichtung durch eine zentrale Vorgabe bestimmter Steuer- bzw. Regelprogramme möglich, die, je nach Anforderung, auf einzelne organische Materialien oder Kultivierungsprozesse abgestimmt sind. Auf diese Weise wird eine bedarfsgerechte Einstellung und Steuerung unterschiedlicher Prozeßparameter ermöglicht.

Hierbei ist es besonders vorteilhaft, wenn in einer Strömungsrichtung nach der Aufnahmeeinrichtung eine Sensoreinrichtung angeordnet ist, durch welche physikalische und chemische Zustandswerte des Nährmediums ermittelbar sind und die Sensoreinrichtung mit der Steuereinrichtung verbunden ist. Durch die Sensoreinrichtung können z.B. die Konzentration der Nährstoffe oder Stoffwechselprodukte in dem Nährmedium bestimmt werden. Durch die Kopplung der Sensoreinrichtung mit der Steuereinrichtung kann schließlich eine gegebenenfalls erforderliche Änderung der chemischen und physikalischen Zustandswerte des Nährmediums vorgenommen werden. Diese Änderung kann aufgrund der beschriebenen Kopplung nahezu in "Echtzeit" erfolgen, d.h. in unmittelbarer Folge auf die Ermittlung der entsprechenden Zustandswerte.

Schließlich ist der Bioreaktor in einer bevorzugten Ausgestaltung dadurch gekennzeichnet, daß ein geschlossenes Gehäuse vorgesehen ist, in welchem die Aufnahmeeinrichtung angeordnet ist und zumindest ein Zufluß und ein Abfluß für das Nährmedium sowie ein Zugang zum Einbringen und Abführen des organischen Materials vorgesehen sind. Durch das geschlossene Gehäuse ist gewährleistet, daß das Innere, ins-

besondere die Aufnahmeeinrichtung des Bioreaktors, nach dessen Herstellung und Sterilisierung auch nach Lagerung und Transport noch steril bleibt. Darüber hinaus wird eine kontaminationsfreie Kultivierung des organischen Materials ermöglicht, da die einzelnen Behandlungsschritte, z.B. das Einbringen und Abführen des organischen Materials sowie das Zu- und Abführen des Nährmediums oder anderer Substanzen, bei geschlossenem Gehäuse vorgenommen werden können und so die Gefahr einer Kontamination des organischen Materials stark vermindert werden kann. Durch den einfachen Aufbau des Bioreaktors ist dieser kostengünstig herstellbar und für einen Einsatz als Einmal-Artikel im klinischen Bereich besonders geeignet.

Ein Aspekt des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Anspruch 15 liegt darin, das in Strömung versetzte Nährmedium durch die das organische Material haltende Aufnahmeeinrichtung hindurchzuleiten. Dadurch ist eine einfach handhabbare und zuverlässige Kultivierung des organischen Materials möglich. Insbesondere ist durch das Durchleiten des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung hindurch eine gute Versorgung des daran bzw. darin gehaltenen organischen Materials mit Nährstoffen gewährleistet, da ein beständiges Umspülen oder gegebenenfalls Durchsetzen mit Nährlösung erzielt wird. Die Strömung kann gleichbleibend oder gepulst sein.

Um die Kontaminationsgefahr für das zu kultivierende organische Material besonders gering zu halten, ist es vorteilhaft, wenn vor einem Beimpfen oder Einbringen des organischen Materials in die Aufnahmeeinrichtung diese sterilisiert wird. Die Sterilisation der Aufnahmeeinrichtung kann hierbei z.B. herstellerseitig unmittelbar nach der Herstel-

lung des Bioreaktors vorgenommen werden. Durch geeignete Maßnahmen zum Verschließen des Bioreaktors kann die Sterilität der Aufnahmeeinrichtung dann bis zum Zeitpunkt des Einsatzes bewahrt werden. Es ist aber auch möglich, die Sterilisation der Aufnahmeeinrichtung erst unmittelbar vor dessen Einsatz vorzunehmen. Prinzipiell können aber zur Sicherung einer besonders hohen Kontaminationsfreiheit beide Maßnahmen kombiniert werden. Außerdem ist auch eine Sterilisation des gesamten Bioreaktors denkbar, wenn beispielsweise besonders hohe Anforderung an die Sicherung der Keimfreiheit gestellt werden.

Zur weiteren Vereinfachung des Kultivierungsprozesses ist vorgesehen, daß vor dem Abführen des kultivierten organischen Materials ein Medium, insbesondere eine physiologische Lösung mit einem Enzym, etwa eine Trypsinlösung zum Lösen und Ausspülen des angelagerten organischen Materials eingebracht wird. Hierdurch erübrigt sich ein Eingreifen in den geschlossenen Bioreaktor, wie es beispielsweise bei einem mechanischen Ablösen des angelagerten organischen Materials mit geeigneten Instrumenten erforderlich ist. Neben dieser Vereinfachung der Handhabung läßt sich durch dieses nicht-invasive Ablösen des Materials die Gefahr sowohl einer Kontamination als auch einer mechanischen Beschädigung des Gewebes stark vermindern. Die Spüllösung kann dabei durch denselben Zugang erfolgen, wie die Beimpfung mit organischem Material. Beim Beimpfen und Ausspülen, auch Ernten genannt, wird zweckmäßigerweise die Nährmediumströmung unterbrochen.

Eine vorteilhafte Ausgestaltung des Verfahrens sieht vor, daß die Strömungsrichtung des durch die Aufnahmeeinrichtung geleiteten Nährmediums während der Kultivierung des organischen Materials geändert wird. Hierdurch kann ins-

besondere bei organischem Material mit großer lateraler Ausdehnung und Dicke eine gute Versorgung der Zellen erreicht werden. Gegebenenfalls auftretende Nährstoffgradienten im Material können auf diese Weise deutlich reduziert werden.

Um eine an den jeweiligen zeitlichen Verlauf des Kultivierungsprozesses angepasste Versorgung des organischen Materials mit Nährstoffen zu gewährleisten und damit eine intensive Kultivierung desselben zu erzielen, ist bei dem erfindungsgemäßen Verfahren vorgesehen, daß stoffliche Zusammensetzung, stöchiometrische Zusammensetzung, Zustand oder Durchflußgeschwindigkeit des Nährmediums während der Kultivierung geändert werden.

Hierbei ist außerdem von Vorteil, wenn während des Durchleitens des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung chemische und/oder physikalische Zustandswerte des Nährmediums gemessen werden, daß die gemessenen Zustandswerte ausgewertet werden und die chemischen und/oder physikalischen Zustandswerte des Nährmediums in Abhängigkeit von den gemessenen Zustandswerten geändert werden. Auf diese Weise lassen sich besonders gut chemische und/oder physikalische Parameter des Nährmediums oder zusätzlicher Nährstoffe an den sich ändernden Bedarf der Zellen im Verlauf des Kultivierungsprozesses anpassen. Es lassen sich auch insbesondere Stoffwechselprodukte des organischen Materials über einen Lactat- oder CO_2 -Wert im Nährmedium feststellen und zur Steuerung, ²Überwachung und Dokumentation des Kultivierungsprozesses sehr gut einsetzen. Es kann so etwa der beste Zeitpunkt zum Ernten ermittelt werden, beispielsweise unmittelbar vor einer unerwünschten Differenzierung bei der Kultivierung von Stammzellen.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Zeichnungen bevorzugter Ausführungsbeispiele näher beschrieben. Es zeigen in einer stark schematisierten Darstellung

- Fig. 1 einen Querschnitt einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors als Flachzelle;
- Fig. 2 eine Ansicht auf eine Zusammenstellung einzelner Komponenten eines erfindungsgemäßen Bioreaktors;
- Fig. 3 einen zusammengebauten Bioreaktor als Flachzelle;
- Fig. 4 ein Diagramm einer Anlage mit einem Bioreaktor;
- Fig. 5 eine schematische Ansicht einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors als Rohrzelle;
- Fig. 6 eine schematische Querschnittsansicht des Bioreaktors von Fig. 5;
- Fig. 7 eine Querschnittsansicht einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors;
- Fig. 8 eine schematische Querschnittsansicht einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Bioreaktors mit Stützgerüst;

Fig. 9 ein Längsschnitt durch den Bioreaktor von Fig. 8; und

Fig. 10
bis 14 weitere Querschnittsansichten alternativer Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Bioreaktors.

Der in Fig. 1 dargestellte Querschnitt einer bevorzugten Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Bioreaktors 10 zur Kultivierung von Stammzellen weist ein Trägerelement 12, davon beabstandete, jeweils zweiteilige Trennwandelemente 11 sowie eine beidseitige Abdeckung 14 auf. Durch die zwischen den einzelnen Elementen vorgesehenen Abstandhalter 16, welche separate Ringelemente oder Teil des Gehäuses sein können, ist eine Einstellung eines gewünschten Abstandes zwischen dem Trägerelement 12 und dem Trennwandelement 11 bzw. zwischen dem Trennwandelement 11 und der Abdeckung 14 möglich.

Die Abdeckungen 14 und die Abstandhalter 16 sind aus Polycarbonat hergestellt. Das Trägerelement 12 ist als technisches Gewebe ausgebildet. Als Fasermaterial wird vorzugsweise ein Monofilament aus Polyamid 6.6 (PA 6.6) oder Polyethylenterephthalat (PET) eingesetzt. Die Maschenweite des Gewebes beträgt durchschnittlich 20 µm und eine Dicke von etwa 55 bis 60 µm auf. Das Gewicht des Gewebes liegt bei etwa 35 bis 40 g/m².

Eine Aufnahmeeinrichtung für das organische Material ist durch das Trägerelement 12 und die Trennwandelemente 11 gebildet, welche einen Aufnahmeraum 13 der Aufnahmeeinrichtung seitlich begrenzen. In dem gezeigten Beispiel weisen

die Trennwandelemente 12 jeweils eine Membran auf, welche auf einem darunterliegenden Stützgewebe aufgebracht ist. Das Membranmaterial umfaßt Polyamid 66 (PA 66). Als Stützgewebe dienen beispielsweise Monofilamentgewebe aus Polyethylenterephthalat (PET) mit einer Maschenweite von etwa 265 µm, einer Dicke von etwa 200 µm sowie einem Gewicht von typischerweise 85 g/m². Typische Membrandicken liegen zwischen 0,45 µm und 0,8 µm. Die Abstandhalter 16 weisen zur Beabstandung der einzelnen Elemente des Bioreaktors eine Höhe von etwa 3 mm auf.

Fig. 2 zeigt eine Ansicht auf eine Zusammenstellung einzelner Komponenten des erfindungsgemäßen Bioreaktors 10. Zwischen den beiden Abdeckungen 14 befinden sich mehrere ringförmige Trägerplatten 24, an welchen das Trägerelement 12 bzw. die Trennwandelemente 11 angebracht sind, welche aus einer Membran 11a und einem Stützgewebe 11b bestehen. Die kreisrunden Formen der verwendeten Gewebe bzw. Membranen sind paßgenau ausgeschnitten, beispielsweise mittels eines Lasers, wobei das als technische Gewebe ausgebildete Trägerelement 12 und die Trennwandelemente 11 auf den Trägerplatten 24 mittels unter UV-Licht aushärtbarem Klebstoff befestigt oder angeschweißt sind.

Die ringförmigen Trägerplatten 24 bilden mit den Abdeckungen 14 ein Gehäuse mit Hohlraum, in welchen Leitungen zum Zu- und/oder Abführen von Fluiden münden. Bei dem vorliegenden Ausführungsbeispiel erfolgt die Zuführung des Nährmediums in den Bioreaktor 10 über die Zuführleitung 19, während zum Abführen des Nährmediums die Abfuhrleitung 22 vorgesehen ist. Das Beimpfen des organischen Materials sowie das Zuführen eines enzymhaltigen Mediums zum Lösen des angelagerten organischen Materials erfolgt über zwei Leitungen

stellt. Der erfindungsgemäße Bioreaktor 10 besitzt ein kompaktes Format, welches dessen Handhabung im Laborbereich ebenso wie im klinischen Bereich besonders erleichtert.

Im Zusammenhang mit dem Schaubild gemäß Fig. 4 werden kurz die wichtigsten Schritte beim Betrieb des Bioreaktors 10 erläutert, welcher zur Kultivierung von peripheren, hämatopoetischen Stammzellen eingesetzt wird. Diese Stammzellen werden zur Blutstammzellentransplantation nach einer Hochdosischemotherapie benötigt.

Zum Beimpfen des Bioreaktors 10 wird dieser zunächst über eine Zuführleitung 19 aus einem Behälter 30 mit Nährmedium gefüllt, welches in radialer Richtung in den Reaktorhohlraum einströmt. Die entsprechende Zuführleitung 19 wird zunächst über ein Sperrventil 31 geschlossen, während eine Abführleitung 22 offen bleibt. Die für die Beimpfung vorgesehenen Zuführleitungen 21 werden über ihre Zuleitungs-Sperrventile 32 geöffnet und die Stammzellen, welche einem Patienten vor der Strahlen- oder Chemotherapie entnommen wurden, können durch diese beispielsweise mit einer Spritze in das Reaktormodul 10 eingespült werden. Nach diesem Vorgang werden die für die Beimpfung vorgesehenen Zuführleitungen 21 sowie die Abführleitung 22 geschlossen. Die Stammzellen befinden sich in der Aufnahmeeinrichtung und können diese besiedeln.

Nach einer gewissen Zeit, welche für eine gleichmäßige Verteilung und Besiedelung der Stammzellen vorteilhaft ist, werden zum Fördern des Zellwachstums die Zuführleitung 19 sowie eine Abführleitung 22 geöffnet. Durch die Zuführleitung 19 wird dann temperierte Nährlösung zugeführt. Im Verlauf des Kultivierungsprozesses kann die Menge der pro

21, die in die Aufnahmeeinrichtung des Bioreaktors 10 münden. Zur Entlüftung des Bioreaktors 10 ist an der Trägerplatte 24 mit der Zuführleitung 19 eine Entlüftungsleitung 20 angeordnet.

Wie dieses Ausführungsbeispiel zeigt, übernehmen hier die im wesentlichen gleich aufgebauten Trägerplatten 24 die Funktion der in Fig. 1 dargestellten Abstandhalter 16. Durch Variation der Dicke der einzelnen Trägerplatten bzw. der Abstandhalter 16 kann der Abstand der einzelnen Bestandteile des Bioreaktors 10 an die für die Kultivierung bestimmter organischer Materialien erforderlichen Bedingungen hervorragend angepaßt werden. Eine wesentliche Rolle spielt hierbei das Verhältnis der Reaktoroberfläche zum Reaktorvolumen, welches durch die Wahl der entsprechenden Gewebe einstellbar ist. Im übrigen läßt sich der Abstand zwischen den einzelnen Bestandteilen auch beispielsweise durch das Einlegen unterschiedlicher Dichtungen oder Zwischenplatten leicht verändern, wobei durch lösbare Befestigungsmittel auch eine Demontage möglich ist.

An die Abdeckungen 14 können sich außerdem Temperierkammern (nicht dargestellt) anschließen, welche zur Aufrechterhaltung einer gleichmäßigen Prozeßtemperatur bei der Kultivierung des organischen Materials dienen. Typischerweise verfügen solche Temperierkammern über eine elektrische Heizung und/oder Kühlung oder sind über Zu- und Ableitungen an einem Wärme- oder Kühlbad angeschlossen. Prinzipiell ist aber auch die Lagerung des Bioreaktors in einem temperierten Wärmeschrank möglich.

Der in Fig. 2 mit seinen einzelnen Bestandteilen beschriebene Bioreaktor 10 ist in der Fig. 3 als zusammengesetzte, fertige Flachzelle mit Zuführ- und Abführleitungen darge-

eine physiologische Lösung wird zugeführt. Die Stammzellen können nun mittels einer Spritze durch die für die Beimpfung vorgesehene Leitung 21 abgesaugt werden. Die hierdurch gewonnenen Stammzellen können nun gewaschen und gegebenenfalls weiteren Behandlungsschritten unterzogen werden, bevor sie einer weiteren Verwendung, z.B. als Blutersatzstoff oder Implantat, zugeführt werden. Zur Entlüftung ist an dem Modulgehäuse des Bioreaktors 10 ein Entlüftungsventil 38 angeordnet.

In Fig. 5 ist ein weiterer erfindungsgemäßer Bioreaktor 10a mit einer rohrförmigen Struktur als Rohrzelle 7 perspektivisch dargestellt. Der Bioreaktor 10a hat eine zylindrische Außenwand 8a, innerhalb welcher konzentrisch angeordnete Trennwandelemente 11 oder Rohre positioniert sind. Zwischen den beiden Trennwandelementen 11a ist koaxial ein rohrförmiges Trägerelement 12a angeordnet. Bei diesem erfindungsgemäßen Bioreaktor 10a kann die Nährflüssigkeit axial entlang des Rohres fließen, wobei aufgrund eines Druckunterschiedes dabei Nährflüssigkeit radial von außen nach innen bzw. von innen nach außen und somit quer durch die Trennwandelemente 11a und das Trägerelement 12a strömen kann.

In Fig. 6 ist die koaxiale Anordnung der einzelnen rohrförmigen Elemente des Bioreaktors 10a noch deutlicher dargestellt, wobei zusätzlich eine Öffnung 17a in der Außenwand 8a ausgebildet ist. Diese Öffnung 17a kann zur Zu- oder Abführung oder zum Einbringen einer Messsonde genutzt werden. Ebenfalls kann sie zur Beimpfung der Kultur dienen.

Ein anderer erfindungsgemäßer Bioreaktor 10b ist aus Fig. 7 ersichtlich, wobei in einer rohrförmigen Außenwand 8b zwei Rohrzellen vorgesehen sind. Eine einzelne Rohrzelle umfasst dabei zwei koaxial zueinander angeordnete rohrförmige Trennwandelemente 10b, zwischen denen mittig ein rohrförmiges Trägerelement 12b eingebracht ist.

Zeiteinheit zugeführten Nährlösung allmählich erhöht werden, da mit zunehmender Dauer des Kultivierungsprozesses mehr Zellen vorhanden sind und somit der Nährstoffbedarf anwächst.

Die Zu- und Ableitung des Nährmediums erfolgt so, daß der im Querschnitt kreisförmige Hohlraum des Bioreaktors 10 und damit die Aufnahmeeinrichtung möglichst gleichmäßig durchströmt wird. Hierdurch wird über die gesamte Fläche des Zellträgers ein gleicher und gleichbleibender Nährstoffgradient sichergestellt. Gleichzeitig werden schädliche Stoffwechselprodukte durch die Nährstoffströmung schnell und zuverlässig aus dem Bioreaktor 10 abgeführt.

Nach Austritt des Nährmediums über die Abführleitung 22 durchläuft das Nährmedium eine erste Meßeinrichtung 33, mit welcher der Gehalt an Nährstoffen und Schadstoffen sowie weitere physikalische und chemische Zustandswerte erfaßt werden. Die ermittelten Werte dienen zur Steuerung und Überwachung des Kultivierungsprozesses mittels einer entsprechenden Steuereinrichtung. Diese kann weiter mit einer zweiten Meßeinrichtung 34 in der Zuführleitung 19 verbunden sein. Das Nährmedium kann nach einer durchgeführten Reinigung und Wiederaufbereitung in einer Aufbereitungseinheit 35 im Kreislauf in den Behälter 30 rückgeführt werden, wobei eine Pumpe 36 als Strömungserzeugungseinrichtung vorgesehen ist.

Zur Entnahme kultivierter Zellen werden schließlich über die Leitung 21 Enzyme zugeführt, welche eine Ablösung der Stammzellen vom Trägerelement 12 bewirken. Die Abführleitung 22 wird dabei über ein Sperrventil 37 geschlossen und

Ein vergleichbar zu dem Bioreaktor 10d von Fig. 10 ausgebildeter anderer Bioreaktor 10g geht aus Fig. 13 hervor. Hier ist ebenfalls das Trägerelement 10g netz- oder gerüstartig in dem Raum zwischen den zwei Trennwandelementen 10g angeordnet.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Bioreaktor 10h ist in Fig. 14 dargestellt. Eine zylindrische Außenwand 8h umfasst ein Stützgerüst bestehend aus einem ringförmigen Stützkörper 15h und einem darin über vier Radialstege 23h gehaltenen, etwa kleeblattförmigen inneren Stützkörper 21h. An der Außenseite des ringförmigen Stützkörpers 15h ist das äußere Trennwandelement 11h angebracht, während in dem inneren Stützkörper 21h insgesamt neun rohrförmige Trennwandelemente 11h angeordnet sind. Zur Vergrößerung der Oberfläche des Trägerelementes 12h ist dieses plissiert, d.h. mit einer gewissen Wellenform ausgebildet.

Aus den Fig. 8 und 9 ist ein weiterer erfindungsgemäßer Bioreaktor 10c zu entnehmen. Innerhalb einer zylindrischen Außenwand 8c ist wie bei den vorbeschriebenen Ausführungsformen koaxial zueinander ein Trennwandelement 11c, ein Trägerelement 12c sowie ein innenliegendes Trennwandelement 11c vorgesehen. Zur Formstabilisierung ist das äußere Trennwandelement 11c an einem ringförmigen Stützkörper 15c angebracht, wobei mehrere ringförmige Stützkörper axial über eingebettete Distanzhalter 19c miteinander verbunden sind. An der radialen Innenseite des ringförmigen Stützkörpers 15c ragen in einem Winkelabstand von 90° zueinander Radialstege 23 nach innen, welche an dem rohrförmigen Trägerelement 12c enden. Innerhalb des rohrförmigen Trägerelementes 12c ist wiederum ein kreuzförmiges Stützelement 21c mit einer Mittenöffnung vorgesehen, in welchem koaxial das Innere zylindrische Trennwandelement 11c angeordnet ist.

Ein mit dem vorbeschriebenen Bioreaktor 10c vergleichbarer Bioreaktor 10d ist in Fig. 10 gezeigt. Allerdings sind bei dem Bioreaktor 10d insgesamt drei innere Trennwandelemente 11d vorgesehen, welche in einem Winkelabstand von 120° zueinander innerhalb des zylindrischen Trägerelementes 12d angeordnet sind.

Bei dem rohrartig aufgebauten Bioreaktor 11e gemäß Fig. 11 ist das Trägerelement 12e plissiert, d.h. wellenförmig zwischen den beiden koaxial zueinander angeordneten Trennwandelemente 11e ausgebildet. Hierdurch wird eine besonders große Oberfläche des Trägerelementes 12e erreicht.

Bei einem anderen Bioreaktor 10f gemäß Fig. 12, welcher ähnlich dem Bioreaktor 10c gemäß Fig. 8 und 9 ausgebildet ist, ist das Trägerelement 12f netz- oder gerüstartig zwischen den zwei Trennwandelementen 11f angeordnet, welche durch einen Stützkörper 15f gehalten werden.

4. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
 - daß die Aufnahmeeinrichtung ein Trägerelement (12) aufweist, welches zum Anlagern des organischen Materials ausgebildet ist, und
 - daß das Trägerelement (12) für das Nährmedium durchlässig ist.
5. Bioreaktor nach Anspruch 4,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
daß das Trägerelement (12) eine dreidimensionale Struktur aufweist, insbesondere als dreidimensionales Gewebe oder als ein poröses Material ausgebildet ist.
6. Bioreaktor nach Anspruch 4 oder 5,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
daß das Trägerelement (12) ein textiles Trägermaterial umfaßt.
7. Bioreaktor nach Anspruch 6,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
 - daß das textile Trägermaterial oberflächenbehandelt ist und
 - daß eine bioverträgliche Oberfläche mit einer Struktur für eine Adhäsion des organischen Materials ausgebildet ist.
8. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
daß dieser als eine Flachzelle (9) aufgebaut ist, bei welcher die Aufnahmeeinrichtung vorzugsweise kreisrund ausgebildet ist.

PATENTANSPRÜCHE

1. Bioreaktor zur Kultivierung organischen Materials, mit einer Aufnahmeeinrichtung zum Aufnehmen und/oder Halten des organischen Materials, wobei die Aufnahmeeinrichtung zum Durchleiten eines Nährmediums durchlässig ausgebildet ist, und mit einer Strömungserzeugungs-Einrichtung, durch welche das Nährmedium in eine Strömung durch die Aufnahmeeinrichtung versetzbar ist, dadurch gekennzeichnet,
 - daß die Aufnahmeeinrichtung zumindest zwei Trennwandelemente (11) aufweist, durch welche ein Aufnahmeraum (13) zum Aufnehmen des organischen Materials umschlossen ist, und
 - daß die Trennwandelemente (11) einerseits durchlässig für das Nährmedium und andererseits im wesentlichen undurchlässig für das organische Material ausgebildet sind.
2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Trennwandelemente (11) eine Membran aufweisen.
3. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Trennwandelemente (11) ein Gewebe aufweisen.

14. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
- daß ein geschlossenes, insbesondere demontierbares
Gehäuse vorgesehen ist, in welchem die Aufnahme-
einrichtung angeordnet ist, und
- daß zumindest ein Zufluß und ein Abfluß für das
Nährmedium sowie ein Zugang zum Einbringen und Ab-
führen des organischen Materials vorgesehen sind.
15. Verfahren zur Kultivierung organischen Materials,
bei dem
- ein Nährmedium zumindest zeitweise in eine Strö-
mung versetzt wird,
- das organische Material in oder an einer Aufnahme-
einrichtung gehalten wird und
- das Nährmedium durch die Aufnahmeeinrichtung hin-
durchgeleitet wird,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
- daß das organische Material in einem Aufnahmeraum
(13) angeordnet wird, welcher von zwei für das Nähr-
medium durchlässigen, jedoch für das organische Ma-
terial weitgehend undurchlässigen Trennwandelemen-
ten (11) umschlossen ist.
16. Verfahren nach Anspruch 15,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
daß vor einem Beimpfen oder einem Einbringen des or-
ganischen Materials in die Aufnahmeeinrichtung diese
sterilisiert wird.
17. Verfahren nach Anspruch 15 oder 16,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t,
daß vor einem Abführen des kultivierten organischen
Materials aus der Aufnahmeeinrichtung ein Medium, ins-
besondere ein Enzym, zum Lösen von angelagertem orga-
nischen Material eingebracht wird.

9. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
daß dieser als Rohrzelle (7) aufgebaut ist, bei der die
Trennwandelemente (11) rohrförmig ausgebildet sind.
10. Bioreaktor nach Anspruch 9,
dadurch gekennzeichnet,
daß die rohrförmigen Trennwandelemente (11) achsparallel,
vorzugsweise koaxial zueinander angeordnet sind.
11. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 8 bis 10,
dadurch gekennzeichnet,
daß mehrere Flachzellen (9) oder Rohrzellen (7) als
Module in einer Strömungsrichtung parallel und/oder
seriell angeordnet sind.
12. Bioreaktor nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet,
daß eine Steuereinrichtung vorgesehen ist, durch
welche die Strömungserzeugungs-Einrichtung, eine
Temperatureinstelleinheit, eine Begasungseinheit,
eine Entgasungseinheit und/oder weitere Versorgungseinheiten steuerbar und/oder regelbar sind.
13. Bioreaktor nach Anspruch 12,
dadurch gekennzeichnet,
- daß in einer Strömungsrichtung nach dem Aufnahme-
raum (13) eine Sensoreinrichtung angeordnet ist,
durch welche physikalische und chemische Zustands-
werte des Nährmediums ermittelbar sind und
- daß die Sensoreinrichtung mit der Steuereinrichtung verbunden ist.

1/6

FIG. 1

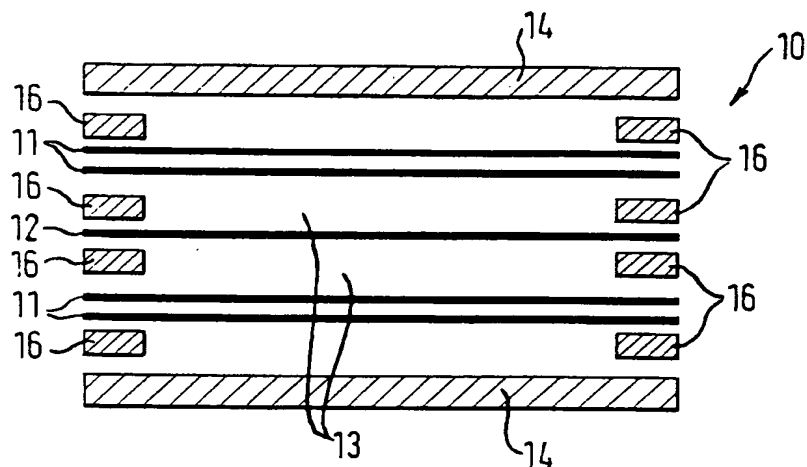
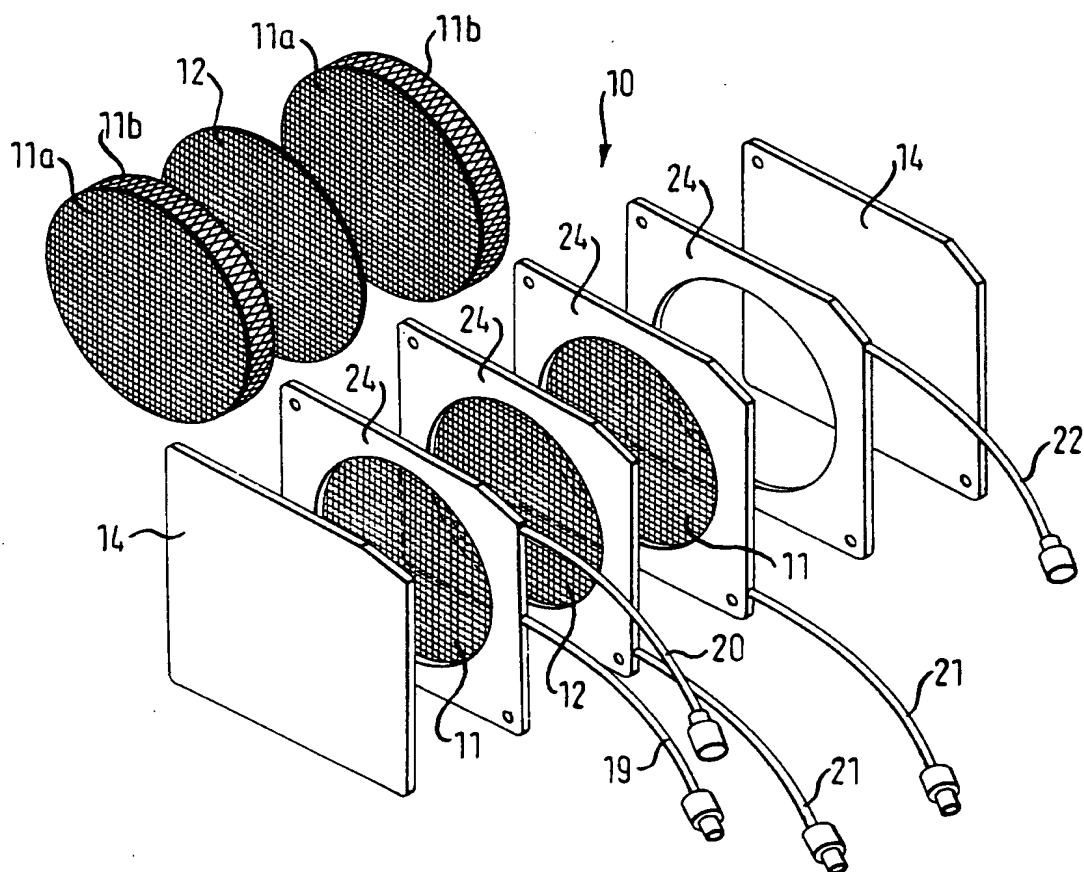


FIG. 2



18. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 17,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Strömungsrichtung des durch die Aufnahmeeinrichtung geleiteten Nährmediums während der Kultivierung des organischen Materials geändert wird.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 18,
dadurch gekennzeichnet,
daß ein chemischer und/oder physikalischer Zustand des Nährmediums, insbesondere eine stoffliche Zusammensetzung, eine stöchiometrische Zusammensetzung, Temperatur, Druck oder Durchflußgeschwindigkeit, im zeitlichen Verlauf der Kultivierung gezielt verändert werden.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 18,
dadurch gekennzeichnet,
 - daß zumindest nach dem Durchleiten des Nährmediums durch die Aufnahmeeinrichtung chemische und/oder physikalische Zustandswerte des Nährmediums gemessen werden,
 - daß die gemessenen Zustandswerte in einer Steuereinrichtung erfaßt und ausgewertet werden, und
 - daß die gemessenen Zustandswerte zur Steuerung und/oder Regelung des Verlaufes der Kultivierung des organischen Materials eingesetzt werden.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 15 bis 20,
dadurch gekennzeichnet,
 - daß das Nährmedium durch mehrere Aufnahmeeinrichtungen geleitet wird, welche parallel und/oder seriell zueinander angeordnet sind.

FIG. 4

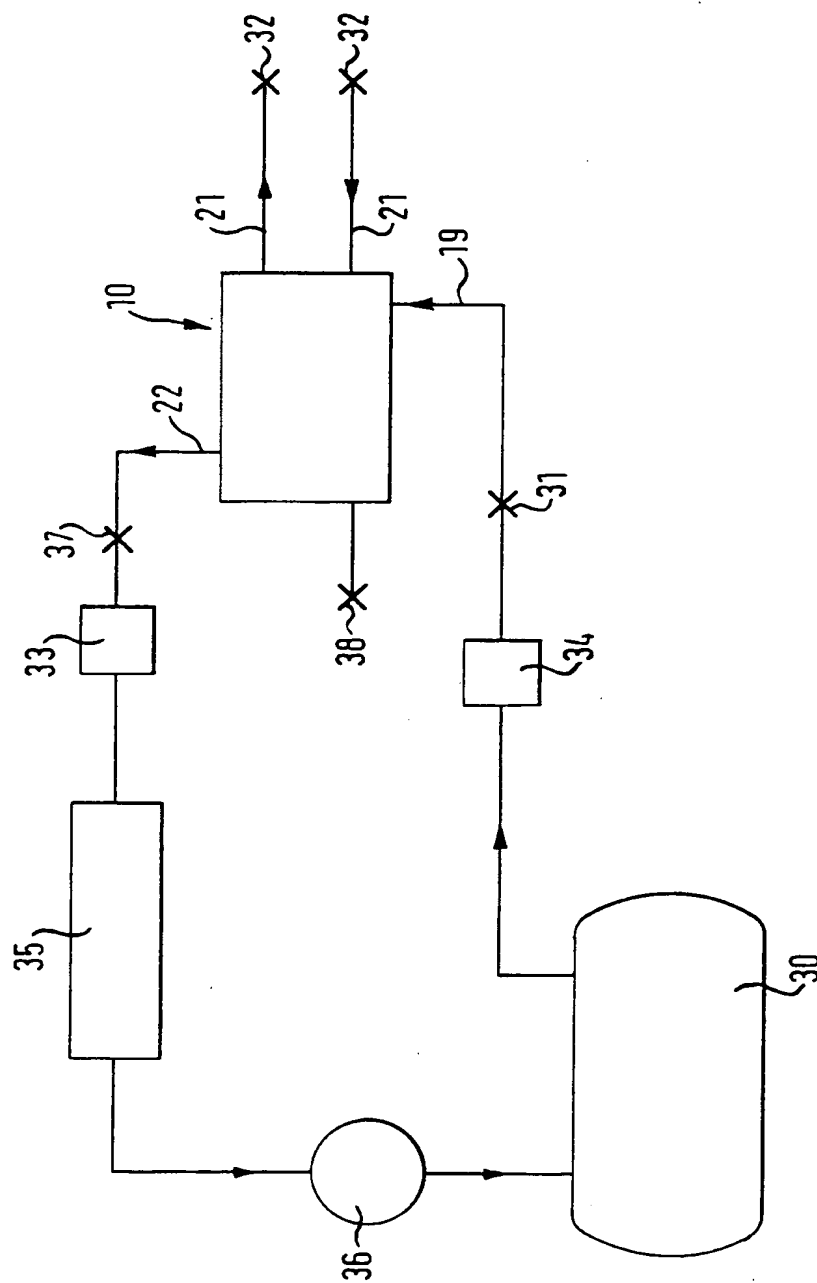
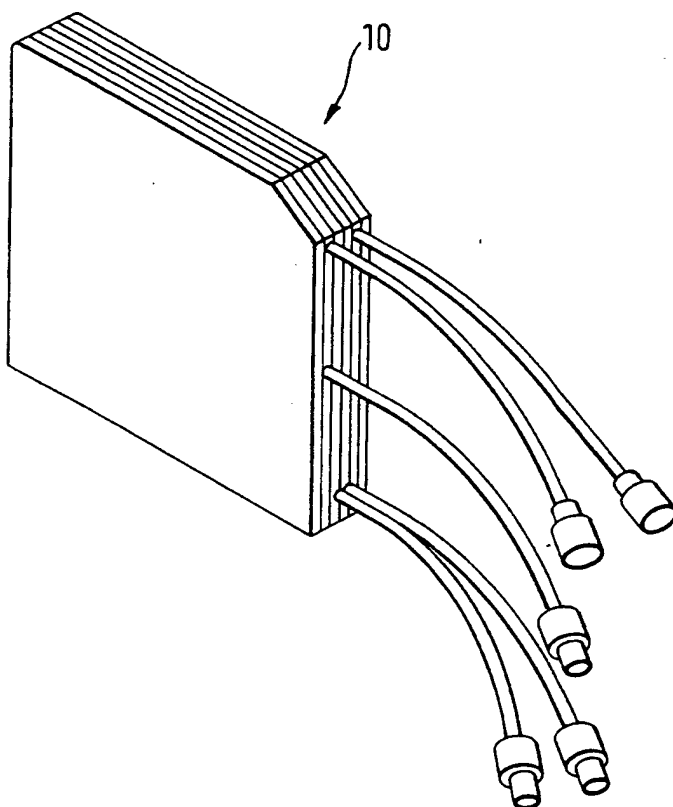
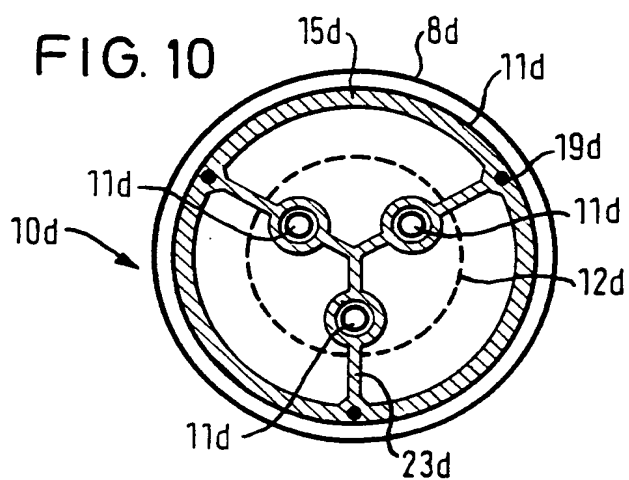
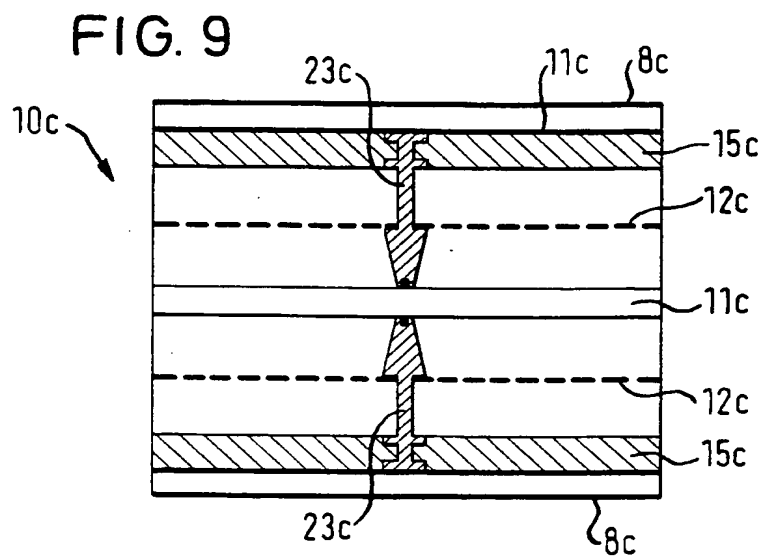
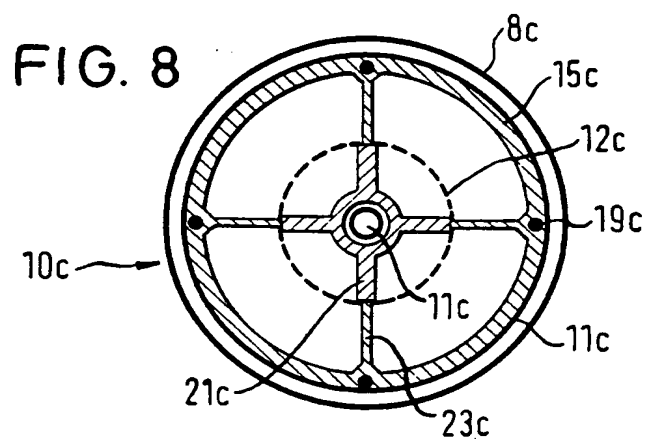


FIG. 3



5 / 6



4/6

FIG. 5

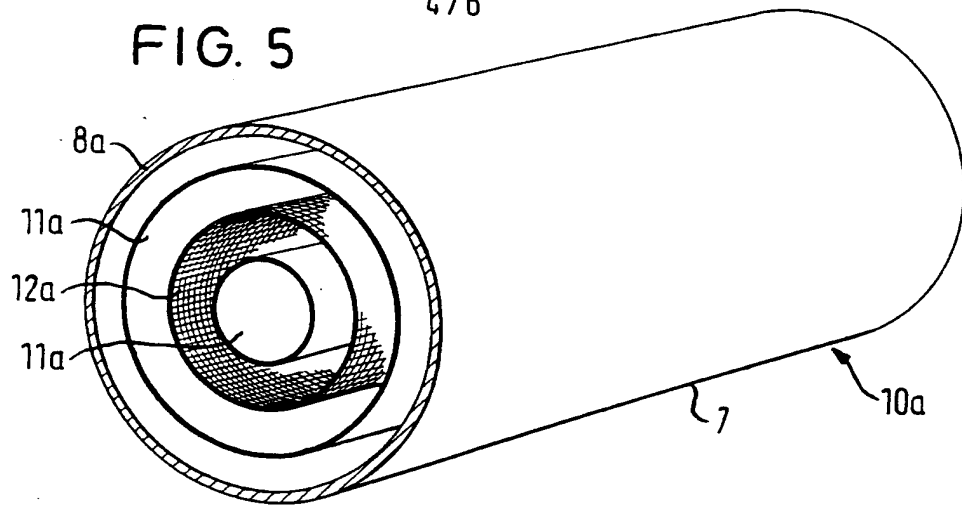


FIG. 6

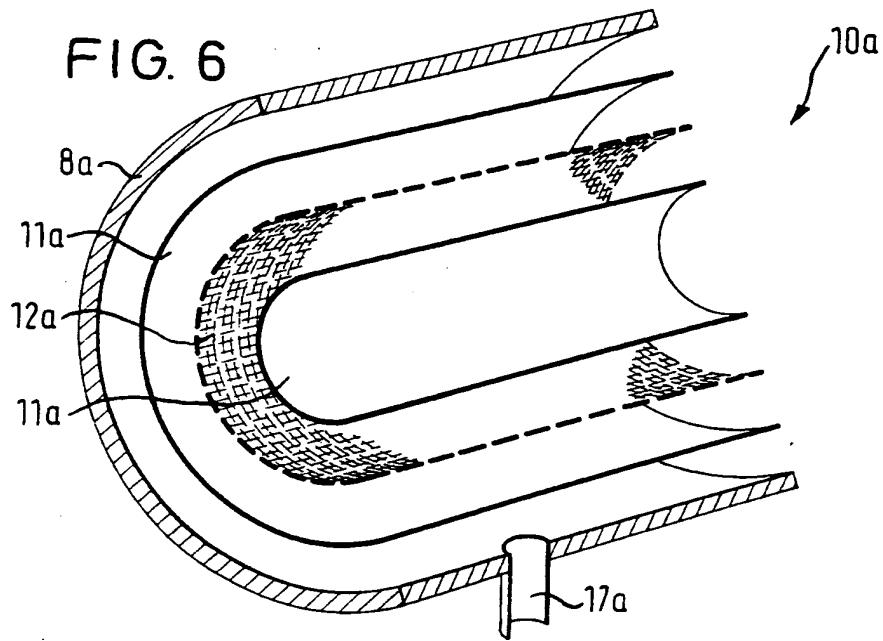
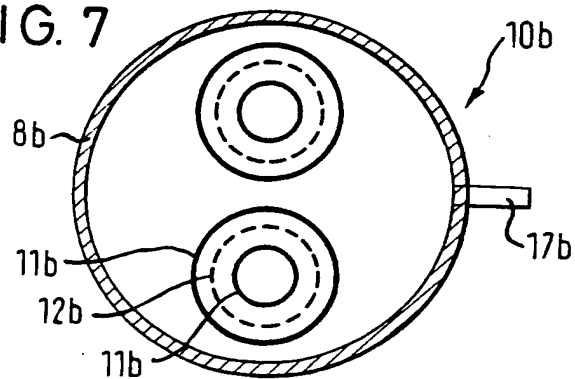


FIG. 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/06355

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12M3/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12M B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 909 811 A (BRAUN CAREX SPA) 21 April 1999 (1999-04-21)	1-7,9, 10,12-16
Y	claims; figures	11,21
X	EP 0 113 328 A (MONSANTO CO) 11 July 1984 (1984-07-11)	1-5,9, 10,12, 14-16
Y	page 12, line 18 -page 14, line 12; claims; figures 1,2	11,21
X	US 4 833 083 A (SAXENA VINIT) 23 May 1989 (1989-05-23)	1-5, 9-12, 14-16, 19-21
Y	claims; figures	11,21
	--- -/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 March 2001

Date of mailing of the international search report

08/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Coucke, A

6/6

FIG. 11

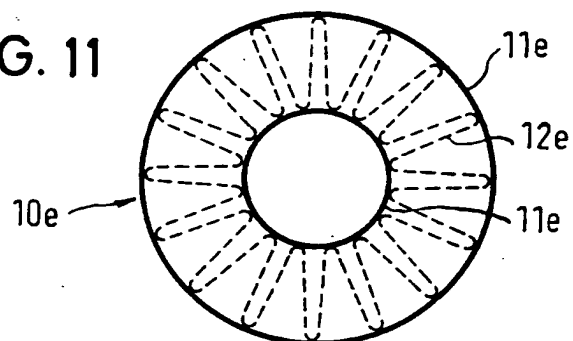


FIG. 12

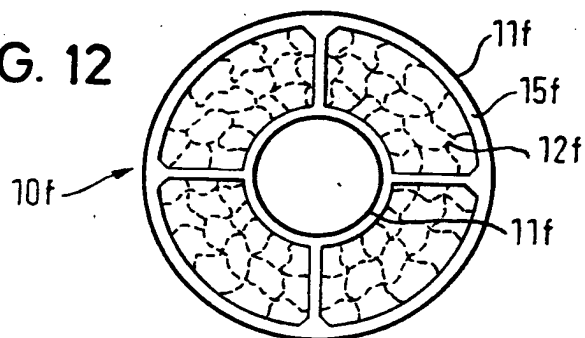


FIG. 13

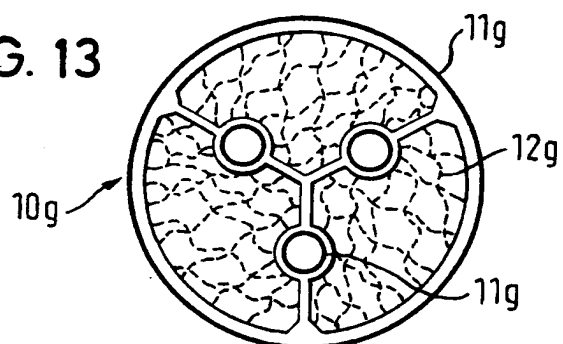
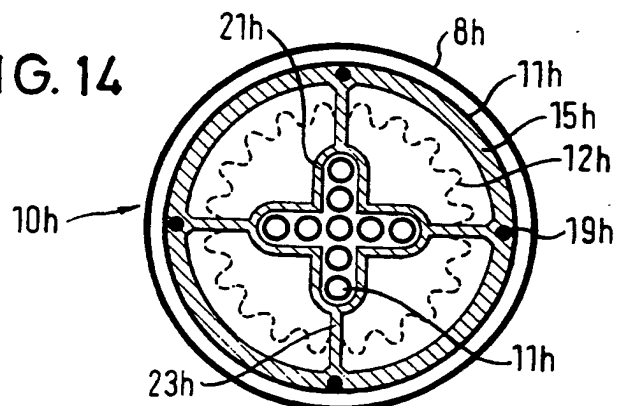


FIG. 14



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/06355

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0909811 A	21-04-1999	IT M0970182 A	16-04-1999
EP 0113328 A	11-07-1984	US 4537860 A	27-08-1985
		CA 1210352 A	26-08-1986
		DE 3377800 D	29-09-1988
		JP 1837137 C	11-04-1994
		JP 5047192 B	16-07-1993
		JP 59118080 A	07-07-1984
US 4833083 A	23-05-1989	NONE	
US 5605835 A	25-02-1997	US 5595909 A	21-01-1997
		US 5981211 A	09-11-1999
		AT 120485 T	15-04-1995
		DE 68921974 D	04-05-1995
		DE 68921974 T	03-08-1995
		EP 0380610 A	08-08-1990
		JP 2835629 B	14-12-1998
		JP 3505965 T	26-12-1991
		KR 131822 B	11-04-1998
		WO 8911529 A	30-11-1989
		AU 9031591 A	26-05-1992
		WO 9207615 A	14-05-1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In. tional Application No

PCT/EP 00/06355

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>US 5 605 835 A (CERRA FRANK B ET AL) 25 February 1997 (1997-02-25)</p> <p>claims 1-3,18,28; figures 1-12 -----</p>	<p>1-5, 8-16, 19-21</p>